

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-218775

(43) 公開日 平成10年(1998) 8月18日

(51) Int. Cl. ⁶	識別記号	F I	
A 6 1 K 31/68	A B J	A 6 1 K 31/68	A B J
	AAA		AAA
	A G Z		A G Z
9/08		9/08	F
// C 0 7 H 23/00		C 0 7 H 23/00	
		審査請求 未請求 請求項の数3	FD (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平9-41604
(22) 出願日 平成9年(1997) 2月10日

(71) 出願人 597027051
梶 龍児
滋賀県大津市千町2丁目19-7
(72) 発明者 梶 龍児
滋賀県大津市千町2丁目19-7
(74) 代理人 弁理士 高橋 健

(54) 【発明の名称】 筋萎縮性側索硬化症治療剤

(57) 【要約】

【課題】筋萎縮性側索硬化症に対する安全でかつ有効な治療剤を提供することである。

【解決手段】メチルコバラミンを有効成分とする筋萎縮性側索硬化症治療剤が提供される。特に、1アンプルに15～50mgのメチルコバラミンを含む筋萎縮性側索硬化症治療剤が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 メチルコバラミンを有効成分とする筋萎縮性側索硬化症治療剤。

【請求項2】 1アンプルに15～50mgのメチルコバラミンを含むことを特徴とする請求項1記載の筋萎縮性側索硬化症治療剤。

【請求項3】 1～4mlのエタノール、生理食塩水又は緩衝液に溶解した15～50mgのメチルコバラミンを1アンプルに含むことを特徴とする請求項1又は請求項2記載の筋萎縮性側索硬化症治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、筋萎縮性側索硬化症治療剤に関する。さらに詳しくは、超大量のメチルコバラミンを有効成分として含む安全でかつ有効な筋萎縮性側索硬化症治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術】筋萎縮性側索硬化症は、脳幹・脊髄・運動ニューロンの病変を主体とし、球症状、上位運動ニューロン障害、下位運動ニューロン障害が進行する疾患であり、ALSとも呼ばれ、「脊髄および大脳の運動神経細胞が変性、消失するため、臨床的には全身の筋萎縮、痙性を来し通常2～3年で呼吸筋の麻痺により死亡する」いわゆる難病の一種である。

【0003】筋萎縮性側索硬化症はその病因が解明されておらず、その根本的治療法はもちろんのこと、進行を防ぐもしくは進行を遅らせるのに有効な治療法さえも未だ見つかっていない。ただリルゾール (riluzole) の投与が脳神経の麻痺を主体とするような一部の病型において生存期間や人工呼吸器の管理下になるまでの期間を1～3ヵ月延長することが欧米の臨床試験で報告されている (ラコンプレッツら、Lancet, 347, 1425-1431 (1996)) もの、我が国での追試では有効性は認められなかった (ヤナギサワら、Physiology of ALS and Related Diseases (キムラ及びカジ編), Elsevier, 1997, pp 219-221)。しかも、リルゾールには患者の主症状である筋力低下や他の臨床症状に対する有効性は見いだされていない。一般にこのような難病には、リハビリテーションや呼吸管理等が重要な意味を持つとされているがこれらを含め、本症についてはその臨床症状を改善する方法は未だ知られていない。このように、筋萎縮性側索硬化症に対する効果的で安全な治療剤は未だ存在せず、その提供が切望されているのが現状である。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的は、筋萎縮性側索硬化症に対する安全でかつ実際に有効な治療剤を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、筋萎縮性側索硬化症に効果を有する薬物を発見すべく鋭意研究を

行ってきたところ、超大量のメチルコバラミン (15～25mg/1日1回連日2週間投与) が筋萎縮性側索硬化症の筋力低下に自覚的に有効であるばかりでなく、他覚的にも顕著な症状改善効果がみられることを見出した。

【0006】本発明の発見に至るまでの経緯を述べると次のとおりである。筋萎縮性側索硬化症における神経細胞死はDNAの破壊を伴うアポトーシス (apoptosis) すなわちプログラムされた細胞死によると考えられている。また、このアポトーシスはグルタミン酸による神経細胞死の機序とされている。すなわち、本症ではグルタミン酸等の毒性やそれに伴うアポトーシスによりDNAが破壊されて蛋白合成の低下を来すために神経細胞が死滅すると仮定することができる。そしてメチルコバラミンの投与がこのグルタミン酸による細胞死に対して抑制的效果をもつという報告がある (アカイケら、Eur. J. Pharmacol., 241, 1-6 (1993))。一方、メチルコバラミンがDNAメチル化においてメチルドナーとして直接働くことが報告されている (ツェーダー、Cell, 53, 3-4 (1988))。これは通常転写を抑制するため、遺伝子発現を低下させることになる。他方、高濃度のメチルコバラミンはS-アデノシルメチオニンによるDNAのメチル化を競争的に阻害するためであろうか遺伝子転写を高く維持することが報告されている (フォールーレスコウイツら、Biochemistry, 30, 8045-8051 (1991))。

【0007】さらに、従来、少量のメチルコバラミン (0.5～1.5mg/1日) がヒトの末梢神経障害の治療に用いられてきたが、本発明者らの末梢神経障害の動物モデルにおける研究では、ヒトのこの用量に相当する投与量では末梢神経障害に対する改善がみられなかった。一方、超大量のメチルコバラミン (ヒト投与量に換算すると15～25mg/1日に相当する量) を投与した場合はこれらの動物モデルに著名な末梢神経の改善効果が認められた。また、超大量投与された動物の脳脊髄液中のメチルコバラミン濃度は極めて高いことが示された。

【0008】メチルコバラミンの超大量投与の効果の生化学的機序は明らかでないが、上記の結果や前記の高濃度メチルコバラミンによるDNAのメチル化の競争的阻害の知見等を併せ考えると、超大量メチルコバラミンの効果は単なるビタミンB₁₂欠乏症に対するビタミンとしての作用やビタミンB₁₂の既知の代謝経路を通じてもたらされるものではなく、細胞の代謝全般に対するメチルコバラミンの重要な生理学的作用によりもたらされるものであると解するのが妥当であろう。従って、本発明者らの得た超大量メチルコバラミンの効果も、その機序としては、メチル基転移反応の補酵素として知られているメチルコバラミンが超大量投与されたときはDNAのメチル化をかえって抑制し、DNAの転写を促進し、それによって神経の再生に必要な各種蛋白質の合成が促進さ

れるという総合的な効果によるのではないかと考えられた。さらに、この効果は単に末梢神経の再生に止まらず、脊髄や脳の運動神経細胞の保護にも及ぶのではないかと本発明者は考えた。

【0009】これらの知見にヒントを得て、本発明者は末梢神経障害ではないが、脊髄および脳の運動神経細胞が変性、消失する難病であり、社会的に治療薬が切望されている筋萎縮性側索硬化症に対し超大量のメチルコバラミン投与（メチルコバラミン15～25mg/1日1回筋注）を試みたところ、投与した筋萎縮性側索硬化症患者において用量依存的に自覚的な筋力上昇やその他覚的指標である筋複合活動電位の振幅の有意な増加が見られ、従来の治療剤によっては得られたことのない顕著な治療効果が得られることを発見した。本発明はかかる事実に基づき完成するに至ったものである。

【0010】即ち、本発明の要旨は、(1) メチルコバラミンを有効成分とする筋萎縮性側索硬化症治療剤、(2) 1アンプルに15～50mgのメチルコバラミンを含むことを特徴とする前記(1)記載の筋萎縮性側索硬化症治療剤、並びに(3) 1～4mlのエタノール、生理食塩水又は緩衝液に溶解した15～50mgのメチルコバラミンを1アンプルに含むことを特徴とする前記(1)又は(2)記載の筋萎縮性側索硬化症治療剤、に関する。

【0011】

【発明の実施の形態】以下に本発明について詳細に説明する。本発明の治療剤は超大量のメチルコバラミンを有効成分とする。メチルコバラミンはビタミンB₁₂類似物質である。この物質はビタミンB₁₂（シアノコバラミン）のコバルトに結合しているシアン基がメチル基に置き換わったもので、化学式はC₆₃H₉₁C₆O₁₃N₁₃O₁₄P、分子量は1344.4の赤色粉末である。

【0012】メチルコバラミンは常法（例えば、特公昭45-38059号公報に記載の方法）によりシアノコバラミンから還元反応・メチル化反応を経て製造することができるが、市販品（例えば、シグマ社製、エーザイ社製など）を使用することもできる。

【0013】本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤を調製するには、メチルコバラミン粉末（市販品としては例えば、シグマ社製）15～50mgを約1～約4mlのエタノール、無菌生理食塩水または無菌緩衝液に溶解しアンプルに封入して調製する。また、使用直前にエタノール、無菌生理食塩水または無菌緩衝液で溶解して使用できるように、メチルコバラミン粉末15～50mgのみをアンプルに封入して調製することもできる。かかる緩衝液としては、リン酸緩衝液、酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液等が挙げられ、そのpHは約5～8が好ましい。メチルコバラミンは光に不安定で容易に分解してヒドロキソコバラミンとなるので光を遮蔽して調製・保存することが必要である。通常の湿度や熱に対しては安定であ

る。本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤には、保存剤としてD-マンニトール等を添加することもできる。また、本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤を静脈注射剤として使用する場合には、煩雑を厭わなければ、エーザイ社製メチコバル注射液（1アンプル中0.5mg含有）を必要な本数（15mgの場合は30本である）使用して点滴静脈注射することもできる。ただし、点滴中も遮光することが必要である。

【0014】本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤を筋萎縮性側索硬化症患者に投与するには、通常、15～50mgのメチルコバラミンを含む本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤を1日1回筋肉内又は静脈内に注射する（患者体重50kgとして、0.3～1.0mg/kg）。血中濃度の消失半減期を考慮すると筋肉内注射がより好ましい。症状によっては50mg（1mg/kg）以上に増量投与することも可能であるが、副作用の発生に注意する必要がある。投与期間は、通常1週間～3週間であり、ついで休薬期間を置いて症状の改善状況、副作用の発生等を観察し、さらに投与を断続的に投与を継続することが好ましい。

【0015】本発明の治療剤の有効成分であるメチルコバラミンは他の用途において既に臨床に供されており、その毒性については特に問題はない。例えば、エーザイ株式会社、医薬品インタビューフォーム、「末梢神経障害治療剤 メチコバル注射液（社内資料）1993」によれば、メチルコバラミンの毒性は次のとおりである。亜急性毒性としては、ラットにメチルコバラミン0.2、2.0及び20mg/kgを1ヵ月間腹腔内投与した場合、いずれの投与群にも一般症状、体重、血液、尿、臓器重量並びに組織学的検査などに特記すべき変化はみられなかった。また、ビーグル犬に0.5、5.0及び50.0mg/kgを90日間静脈内投与した場合もラットの場合と同様にいずれの投与群にもなら特記すべき変化はみられなかった。病理組織学的検査では、50.0mg/kg投与の場合に腎の近位尿細管上皮細胞内に光顕的に好酸性顆粒の増加が、電顕的にはライソゾームの増加が認められたが、精巣上体には変化はなかった。

【0016】慢性毒性としては、ラットにメチルコバラミン0.2、2.0及び20mg/kgを6ヵ月間腹腔内投与した場合、いずれの投与群にも一般症状、体重、血液、尿、臓器重量並びに組織学的検査などに特記すべき変化はみられなかった。また、ビーグル犬に0.5、5.0及び50.0mg/kgを12ヵ月間静脈内投与した場合もラットの場合と同様にいずれの投与群にもなら特記すべき変化はみられなかった。病理学的組織検査では5.0mg/kg以上投与された場合の腎の近位尿細管上皮細胞に光顕的に好酸性顆粒の増加が、電顕的にはライソゾームの増加が認められた。また、50.0mg/kgの投与では腎の糸球体メサングウム細胞にお

けるライソゾームの増加及び肝のクプフェル細胞の増加が認められた。

【0017】生殖試験では、マウス及びラットの器官形成期にメチルコバラミン20mg/kgの腹腔内投与をした場合及びラットの妊娠前及び妊娠初期、器官形成期、周産期及び授乳期、並びにウサギの胎児の器官形成期に50mg/kgの静脈内投与をした場合では、いずれも胎児及び新生児に対して異常所見や催奇形作用はみられなかった。

【0018】ビタミンB₁₂を超大量投与(50mg/kg)すると、動物実験では一時的に全身の皮膚が紅潮したり、腫れたりすることがあることが稀に観察されている。これまでの諸外国の報告でもこれ以外に重篤な副作用の報告はみられない。赤色尿がみられることはあるが、一過性で減量又は休薬により消失する。従って、本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤を投与することにより、副作用が生じた場合は、適宜治療を行い、減量又は休薬することが好ましい。

【0019】

【実施例】以下、実施例及び臨床例により本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例等によりなんら限定されるものではない。

【0020】実施例1

以下に示す臨床例11～34の筋萎縮性側索硬化症患者に対して本発明の治療剤を投与するため、市販のメチルコバラミンを有効成分とする本発明の治療剤を調製した。具体的には、臨床例11～22の場合は、エーザイ社製「メチコバル注射液500μg」30アンプルを無菌的に開蓋して合わせ、メチルコバラミン15mgを含む総容量30mlの本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤を調製した。臨床例23～34の場合は、シグマ社製「メチルコバラミン粉末」25mgを2.0mlの生理食塩水に溶解して本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤を調製した。臨床例1～10の場合は、プラセボ(通常のコース)として、エーザイ社製「メチコバル注射液500μg」1アンプルを使用した。

【0021】臨床例1～10

呼吸不全を起こしていない筋萎縮性側索硬化症患者10名に、プラセボとして、連日メチルコバラミン0.5mgを筋肉内注射した。評価の指標に患者の自覚症状と、最遠位部刺激による両側の正中神経、尺骨神経、腓骨神経における神経伝導速度検査の複合筋活動電位振幅の総平均を用いた。その結果、10名とも自覚症状の改善はみられず、他覚的所見も図1に示すように改善はみられなかった。また、投与前と投与開始4週間後における複合筋活動電位振幅の比は図4に示すように1より小であり、全く改善はみられない。

【0022】臨床例11～22

呼吸不全を起こしていない筋萎縮性側索硬化症患者12名に、本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤15mgを連

日2週間点滴静注した。評価の指標に患者の自覚症状と、両側の正中神経、尺骨神経、腓骨神経における神経伝導速度検査の複合筋活動電位振幅の総平均を用いた。その結果、自覚症状の改善が12名中5名に認められた。両側の正中神経、尺骨神経、腓骨神経における神経伝導速度検査の複合筋活動電位振幅は、図2に示すように、投与開始2～3週間後は振幅が減少傾向を示したが、投与開始4～6週間後は振幅が増加する傾向がみられた。

【0023】臨床例23～34

呼吸不全を起こしていない筋萎縮性側索硬化症患者12名に、本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤25mgを連日2週間筋肉内注射した。評価の指標に患者の自覚症状と、両側の正中神経、尺骨神経、腓骨神経における神経伝導速度検査の複合筋活動電位振幅の総平均を用いた。その結果、なんからの自覚症状の改善がみられた患者は12名中9名にのぼった。他覚的所見としては、図3に示すように、投与開始2週間後に複合筋活動電位振幅の増加傾向がみられ、投与開始4週間後には振幅が有意に増加した($p < 0.05$)。また投与前と投与開始4週間後における複合筋活動電位振幅の比は臨床例23～34では平均約1.35に達し、臨床例1～10(0.5mg投与)の平均0.97に比べその改善効果が顕著であることを示す(図4)。これらの結果は、超大量のメチルコバラミンの投与が筋萎縮性側索硬化症により傷害された運動ニューロンの保護を促していることを示すものである。

【0024】以上の臨床所見を総合すると、従来より末梢神経障害の治療に使用されてきたメチルコバラミンを従来の使用量で筋萎縮性側索硬化症患者に使用しても改善効果は全くみられないが、メチルコバラミンを超大量投与することにより、筋肉が痩せ呼吸麻痺を来して死に至る難病である筋萎縮性側索硬化症の顕著な改善を図ることができることは明らかである。

【0025】

【発明の効果】本発明の筋萎縮性側索硬化症治療剤を筋萎縮性側索硬化症患者に投与すると、投与開始2～4週間後には自覚症状の改善が認められ、他覚的所見としても、両側の正中神経、尺骨神経、腓骨神経における神経伝導速度検査の複合筋活動電位の振幅が有意に増大するなどの顕著な筋萎縮性側索硬化症の改善がみられる。副作用はほとんどみられない。従って、本発明により安全でかつ実際に臨床症状を改善させるのに有効な筋萎縮性側索硬化症治療剤を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、呼吸不全を起こしていない筋萎縮性側索硬化症患者にプラセボとして0.5mgのメチルコバラミンを連日2週間筋肉内注射した臨床例1～10について、投与前と投与開始4週間後の複合筋活動電位振幅を測定した結果を示す図である。縦棒は標準偏差を示

す。

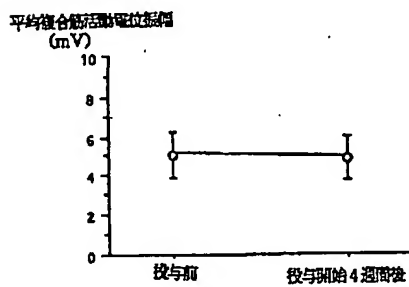
【図2】図2は、呼吸不全を起こしていない筋萎縮性側索硬化症患者に連日2週間15mgのメチルコバラミンを点滴静注した臨床例11～22についての、投与前と投与開始2週間後と投与開始4週間後の3点で複合筋活動電位振幅を測定した結果を示す図である。縦棒は標準偏差を示す。

【図3】図3は、呼吸不全を起こしていない筋萎縮性側索硬化症患者に連日2週間25mgのメチルコバラミン

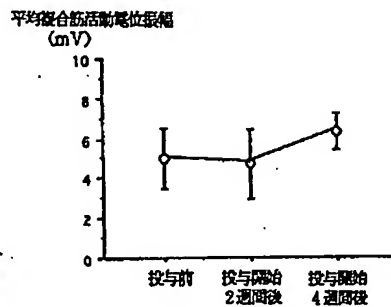
を筋肉内注射した臨床例23～34についての、投与前と投与開始2週間後と投与開始4週間後の3点で複合筋活動電位振幅を測定した結果を示す図である。縦棒は標準偏差を示す。

【図4】図4は、メチルコバラミン連日2週間投与前と投与開始4週間後における複合筋活動電位振幅の比を臨床例23～34と臨床例1～10について比較した図である。縦棒は標準偏差を示す。

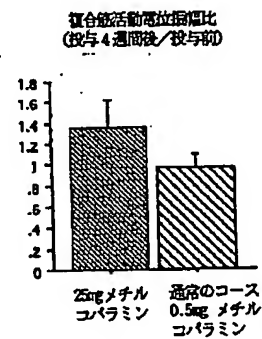
【図1】



【図2】



【図4】



【図3】

